



Universidade Federal de Santa Catarina
Centro de Ciências Físicas e Matemáticas
Departamento de Química
Curso de Graduação em Química Bacharelado

**EFEITO DO SOLVENTE NAS REAÇÕES DE
TRANSFERÊNCIA DE SULFURILA DO
p-NITROFENILSULFATO DE POTÁSSIO**

AMANDA GONÇALVES DAMASCENO

FLORIANÓPOLIS / SC
OUTUBRO – 2003

AMANDA GONÇALVES DAMASCENO

**EFEITO DO SOLVENTE NAS REAÇÕES DE
TRANSFERÊNCIA DE SULFURILA DO
p-NITROFENILSULFATO DE POTÁSSIO**

Monografia apresentada ao curso de Graduação
em Química (área de concentração: Físico-
Química Orgânica), da Universidade Federal de
Santa Catarina – UFSC, como requisito parcial
para obtenção do grau de Bacharel em Química

Coordenador de Estágio: Prof. Dr. Eduardo Antônio Pinheiro

Orientador: Prof. Dr. Faruk José Nome Aguilera

FLORIANÓPOLIS / SC

OUTUBRO – 2003

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pela força, pelas amizades que tive em meu caminho.

Aos meus pais Rosana e Luís Carlos, que sempre estiveram presentes em minhas decisões, ajudando nas minhas angústias e dificuldades, não deixando que eu desistisse, nem fracassasse. Sinto muito orgulho de vocês.

Ao Nei meu namorado, que “nunca” deixou de me apoiar e me orientar durante a graduação. Pelo amor, carinho, compreensão, e noites de sono perdidas de preocupação comigo, seja por uma prova difícil ou uma decisão complicada.

Ao Professor Faruk Nome pela orientação, oportunidade, credibilidade em meu trabalho, e acima de tudo pela lição de vida.

A todos os professores e servidores do Departamento de Química da UFSC, em especial Professora Maria da Graça, responsável pelo amor a química nas primeiras fases. E a servidora Luci, pela paciência e conselhos.

Aos meus colegas de laboratório, em especial Tiago pela compreensão, ajuda e correção do TCC, Jacks, Valquíria, Rosane, Margarete, Pedro, David, Marcelo Lima, Marcelo Silva, Rodrigo, Eduardo, Josiel, Elisane, que sempre me ajudaram em tudo, até mesmo agüentando o cheiro de piridina que infestava o laboratório nos primeiros dias. Pelo carinho e respeito que tiveram comigo durante este período curto, porém intenso.

Aos meus “amigos”, especialmente Fábio, Ana Paula, Sílvia, Dê, Binho, Mathias, Digão, Dani, Karina, Gilmar, Grazi, Aldo, Domingas, Joelma, Luciano, Cristian, Fabi, Wallace, Okima, que fizeram dos meus dias tristes, alegres na certeza de que poderia contar sempre com eles, seja para desabafar, seja para sair tomar uma cervejinha ou apenas por estar por perto, contribuíram cada um com sua particularidade na minha formação como pessoa.

Ao time de Handebol, Rê, Lizi, Marian, Mi, Carol, Renata, Gi, Janine, pelos arremessos fortes nos dias de raiva e pelos treinos descontraídos.

” De tudo ficaram três coisas:
a certeza de que estaremos sempre começando,
a certeza de que é preciso continuar,
e a certeza de que seremos interrompidos antes de terminar.
Fazer da interrupção um caminho novo.
Fazer da queda um passo de dança, do medo uma escada, do sonho uma
ponte, da procura um encontro.”

Fernando Sabino

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Justificativa	1
1.2. Objetivos	2
1.3. Revisão Bibliográfica	
1.3.1. Cinética e Mecanismo	3
1.3.2. Efeito do Solvente	6
1.3.3. Reações de Transferência do Grupo Sulfurila	8
 2. MATERIAIS E MÉTODOS	 10
2.1. Equipamentos	10
2.2. Reagentes	10
2.3. Síntese do <i>p</i>-Nitrofenilsulfato de Potássio	10
2.4. Acidificação dos Solventes e Padronização	11
2.5. Medidas Cinéticas	11
 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 13
 4. CONCLUSÕES	 20
 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	 21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de energia livre hipotético para uma reação na ausência e presença de catalisador.....	5
Figura 2. Mecanismo de formação de <i>p</i> -nitrofenilsulfato por β -arilsulfotransferase IV.....	9
Figura 3. Espectros de UV-Vis em metanol da reação de transferência do grupo sulfurila de <i>p</i> NPS em 0,01 M de HCl a 25 °C.....	12
Figura 4. Estrutura do <i>p</i> NPS obtida da difratometria de Raio-X.....	13
Figura 5. Ambiente de coordenação do átomo de potássio na estrutura cristalina do <i>p</i> NPS.....	13
Figura 6. Variação da k_{obs} vs. a concentração molar de HCl para a reação de transferência do grupo sulfurila do <i>p</i> NPS em álcoois primários a 25 °C.....	14
Figura 7. Variação da k_{obs} vs. a concentração molar de HCl para a reação de transferência do grupo sulfurila do <i>p</i> NPS em álcoois secundários a 25 °C.....	15
Figura 8. Variação da k_{obs} vs. a % de 1,4-dioxano para a reação de transferência do grupo sulfurila do <i>p</i> NPS em butanol-2 com 0,788 M de HCl a 25 °C.....	16
Figura 9. Variação da k_{obs} vs. a % de metanol para a reação de transferência do grupo sulfurila do <i>p</i> NPS em misturas metanol/etanol com 0,83 M de HCl a 25 °C.....	16

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Efeito do solvente sobre a constante de dissociação do <i>p</i> -nitrofenol....	07
Tabela 2. Valores de constante de catálise ácida em diversos solventes para a reação de transferência do grupo sulfurila do <i>p</i> NPS.....	18

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

<i>p</i> NPS	<i>p</i> -nitrofenilsulfato de potássio
S	substrato
P	produto
T	temperatura em graus Kelvin
<i>k</i>	constante de velocidade de reação
UV/VIS	espectroscopia de ultravioleta e visível
λ	comprimento de onda
RMN ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
IV	espectroscopia de infravermelho
s	segundos
M	molar = mol.L ⁻¹
MeOH	metanol
EtOH	etanol
PrOH	propanol
PrOH-2	propanol-2
BuOH	butanol
BuOH-2	butanol-2

RESUMO

Estudos recentes vêm sendo realizados demonstrando a importância da transferência do grupo sulfurila. A sulfurilação possui um papel biológico crucial na metabolização de xenobióticos e os monoésteres do sulfato são achados entre todas as classes de produtos naturais. Contudo, poucos estudos têm sido realizados com relação à química destes compostos.

Neste trabalho estudou-se o efeito de álcoois e de 1,4-dioxano sobre a velocidade de transferência do grupo sulfurila do *p*-nitrofenilsulfato de potássio (*p*NPS) em meio ácido.

Observou-se que o aumento da concentração de ácido nos álcoois provoca um aumento linear nas velocidades de reação, que foram de 265 a 4400 vezes maiores que em água. O aumento de velocidade em relação a água indicou que a reação é favorecida em solventes próticos menos polares, onde a formação do grupo de saída *p*-nitrofenol é favorecida. Este efeito demonstrou ser dependente das ligações de hidrogênio com o solvente, que diminui com o aumento da cadeia hidrocarbônica dos álcoois.

Na reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em meio ácido observou-se que a reação foi 230 vezes mais rápida em uma mistura 35/75% de 1,4-dioxano/butanol-2 que em butanol-2 puro. Neste caso o aumento da proporção de 1,4-dioxano favorece a transferência do próton para o grupo de saída e conseqüentemente, promove a estabilização do estado de transição da reação.

Em síntese, neste trabalho foi observada uma forte dependência da velocidade de reação com o solvente. Os estudos em meio ácido, apresentam contribuições importantes para o entendimento do mecanismo de transferência do grupo sulfurila.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Justificativa

Um interesse crescente na compreensão dos detalhes mecanísticos de reações químicas, especialmente de interesse biológico, vêm sendo realizados. Uma variedade de técnicas tem sendo utilizadas, principalmente, para entender como ocorrem os estados de transição das reações catalisadas por enzimas.

Acredita-se que a estrutura molecular do estado de transição de uma reação catalisada por enzimas é determinada por fatores eletrostáticos e estruturais, que auxiliam os reagentes na conversão a produtos diminuindo a energia do estado de transição ou aumentando a energia do estado reagente. O entendimento destes efeitos possui um papel prático muito importante, o fato que análogos do estado de transição podem ser inibidores potentes de reações enzimáticas tem sido uma meta crucial para a síntese de novos fármacos. Contudo, existem poucos aspectos da química das enzimas que são realmente compreendidos, havendo um crescente interesse no estudo destes sistemas.¹

Neste sentido, a química dos ésteres de fosfato e sulfato vêm sendo estudada. Estes compostos possuem grande importância em sistemas biológicos, onde sua hidrólise e formação são catalisadas com grande eficiência por enzimas conhecidas por fosfatases e sulfatases, que catalisam muito estas reações quando comparadas às reações não catalisadas.²

As reações de transferência do grupo sulfurila possuem um papel biológico crucial na desintoxicação de xenobióticos. E ainda, monoésteres de sulfato estão entre todas as classes de produtos naturais, incluindo nucleotídeos, peptídeos e proteínas, polissacarídeos, esteróides e lipídeos. Os monoésteres esteroidais de sulfato são intermediários chave na biossíntese de esteróides, onde o grupo sulfato permite que estes intermediários sejam mantidos na circulação sanguínea como precursores de hormônios.³

Embora, estes compostos possuam grande importância biológica, a química dos ésteres de sulfato ainda é pouco explorada. Assim, o estudo destas reações contribui para um entendimento das reações de transferência do grupo sulfurila que poderá estar relacionada com a catálise enzimática.

1.2. Objetivos

Gerais:

Estudar o efeito do solvente na transferência do grupo sulfurila do *p*-nitrofenilsulfato de potássio em meio ácido.

Específicos:

Os objetivos específicos deste trabalho são:

- Avaliar o efeito de diversos álcoois sobre a reação de transferência em meio ácido;
- Avaliar o efeito de misturas de 1,4-dioxano/butanol-2 e etanol/metanol sobre a reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em meio ácido.

1.3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA:

1.3.1. Cinética e Mecanismo:

A cinética química determina, em função do tempo de reação, as concentrações de reagentes e produtos. As velocidades de reação obtidas destas medidas são, em geral, perturbadas pela temperatura, força iônica, pH, entre outras, sendo por esta razão muitas vezes estudadas sob condições em que uma ou mais destas propriedades são mantidas inalteradas, enquanto que outra propriedade de interesse é variada no curso da reação.

Há vários métodos para se acompanhar as mudanças de concentração nas reações, e dependem das espécies químicas envolvidas e da rapidez das alterações, pois as reações podem atingir o equilíbrio muito lentamente ou de forma praticamente instantânea.

Um dos métodos mais usados para o acompanhamento do avanço de uma reação é a medida espectrofotométrica da absorção de luz de uma espécie química numa certa região do espectro. Esta técnica é especialmente apropriada quando a substância possui características de absorção muito definidas numa região de fácil acesso do espectro eletromagnético.⁴

Como as velocidades de reações dependem da composição da mistura reacional, muitas vezes se verifica que a velocidade de uma reação é proporcional a concentração dos reagentes elevadas a certas potências. Por exemplo, a velocidade da reação pode ser proporcional a molaridade do reagente A multiplicada pela molaridade do reagente B, como segue, $v = k.[A].[B]$, onde cada concentração está elevada a primeira potência. O coeficiente k é a constante de velocidade que não depende da concentração, mas que pode depender de outros fatores, tal como a temperatura. A medida experimental da velocidade de reação em função da concentração dos reagentes leva a equação que é chamada de lei de velocidade. É importante ressaltar que esta lei de velocidade só pode ser determinada experimentalmente e não pode ser deduzida de uma simples equação química.^{4,5}

Uma aplicação prática da lei de velocidade é a previsão da velocidade de uma reação quando conhecida a composição da mistura. Além disso, conhecida a

lei de velocidade pode-se deduzir a composição da mistura em qualquer instante de tempo e assim dispor de um guia para o mecanismo da reação, desde que um mecanismo proposto deve ser compatível com a sua lei observada.

Em geral, as reações são seguidas cineticamente sob condições de primeira ordem ou ainda de pseudoprimeira ordem, no último caso é especialmente importante no estudo de reações de segunda ou terceira ordem, nestes casos, utiliza-se um grande excesso estequiométrico de todos os reagentes, exceto de um deles, de tal modo que somente a concentração deste reagente, efetivamente, varie com o tempo. Nos casos, onde o íon H^+ participa da reação o simples fato de tamponar a solução faz com que o pH se mantenha constante durante a reação. A dedução da equação de velocidade para estes tipos de reações pode ser obtida da derivação de uma simples reação onde apenas a concentração de um reagente varia com o tempo, $v = k.[A]$, como segue abaixo;⁵

$$\frac{\partial[A]}{\partial t} = -k.[A] \quad [1] \quad \therefore \quad \frac{\partial[A]}{[A]} = -k.\partial t \quad [2]$$

integrando a **Equação 2** tomando como limites $[A]_0$ (a concentração no $t = 0$ e $[A]$ (a concentração no tempo t) obtém-se;

$$\int_{[A]_0}^{[A]} \frac{\partial[A]}{[A]} = -k.\int_0^t \partial t \quad [3] \quad \therefore \quad \ln[A] - \ln[A]_0 = -k.t \quad [4]$$

por sua vez, o tempo de meia-vida, $t_{1/2}$, que é o tempo necessário para que a concentração da espécie considerada diminua para a metade do seu valor inicial, $[A] = [A]_0/2$, pode ser calculado substituindo a expressão anterior na **Equação 4**;

$$k.t_{1/2} = \ln \frac{[A]_0}{2} + \ln[A]_0 \quad [5]$$

considerando $[A]_0 = 1$ e substituindo na **Equação 5** obtém-se;

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0,693}{k} \quad [6]$$

na qual se pode observar que independe da concentração inicial do reagente utilizado.

A velocidade de uma reação pode ser sensivelmente aumentada na presença de uma pequena quantidade de substância, comumente conhecida como catalisador. Este deve possuir algumas importantes características;⁶

- Deve aumentar a velocidade da reação quando presente em pequenas quantidades;
- Estar quimicamente inalterado no fim da reação, apesar de poder participar da mesma e ser regenerado posteriormente. Embora algumas vezes observa-se que o mesmo pode ser consumido pelos produtos gerados da reação; e por fim,
- Não pode alterar as variações de entalpia e de energia livre de uma reação, nem o valor da sua constante de equilíbrio.

Segundo Bender,⁷ a função de um catalisador é prover um novo caminho reacional, no qual a etapa determinante da velocidade tem a energia livre de ativação diminuída em relação à etapa determinante de uma reação não catalisada. Assim, a energia do estado de transição da reação catalisada é menor que na não catalisada (**Figura 1**).

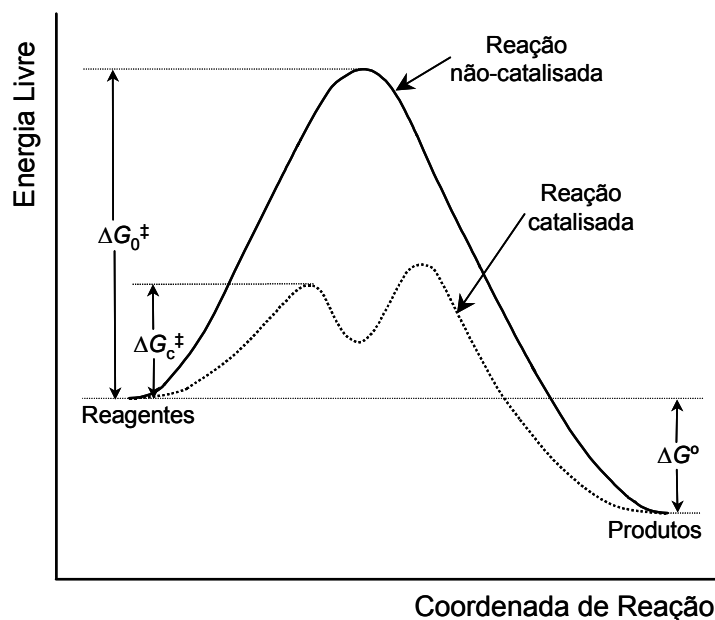
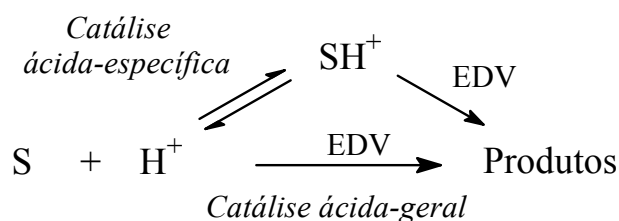


Figura 1. Diagrama de energia livre hipotético para uma reação; onde ΔG_0^\ddagger e ΔG_c^\ddagger são respectivamente, a energia de ativação para a reação na ausência e presença de catalisador.

Existem dois tipos de gerais de classificação de catálises, a heterogênea e a homogênea. A catálise homogênea difere da heterogênea em dois aspectos;⁴

- Não há efeitos de superfície, de modo que a velocidade de reação independe da natureza das paredes do recipiente e da razão entre área superficial e volume;
- O catalisador forma um composto com um dos reagentes antes de ser regenerado. O efeito cinético do catalisador pode ser medido diretamente, pois sua concentração pode ser variada de modo conhecido.

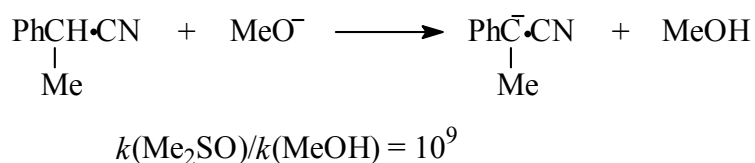
A catálise homogênea subdivide-se em ácida e base específica, ácida e base geral, nucleofílica e eletrofílica. Por exemplo, na reação catalisada por um ácido HA sob um substrato S a catálise ácida geral pode ocorrer com a transferência do próton para o substrato na etapa determinante da velocidade (EDV) de reação ou por catálise ácida específica com a transferência do próton em um pré-equilíbrio (**Esquema 1**).⁸



Esquema 1

1.3.2. Efeito do Solvente:

A maioria das reações orgânicas ocorre em uma fase líquida homogênea. O solvente pode possuir propriedades únicas, a qual algumas vezes podem contribuir com a mobilidade dos reagentes, trazendo-os em proximidade e permitindo uma colisão efetiva para a formação dos produtos. De fato, a interação complexa entre o solvente e o soluto pode resultar em uma modificação da atividade dos reagentes, suas energias livres, e, conseqüentemente, suas reatividades.⁸ Pode-se esperar um aumento de até 10^9 vezes na velocidade de uma reação quando um solvente é substituído por outro, e muitas vezes, o efeito do solvente pode ser considerado como uma verdadeira catálise da reação (**Esquema 2**).⁹

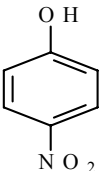


Esquema 2

Os solventes podem ser distinguidos em três categorias principais, próticos, polar e apolar apróticos, sendo os dois primeiros os mais estudados. O solvente prótico refere-se aos solventes que possuem uma função doadora de próton, tais como álcoois e a água, apresentam um grande momento dipolar e a capacidade de formar ligações de hidrogênio. O solvente polar aprótico, por sua vez, se refere aos que possuem um grande momento dipolar e nenhuma propriedade doadora de prótons, tais como dimetilsulfóxido (DMSO) e cetonas.

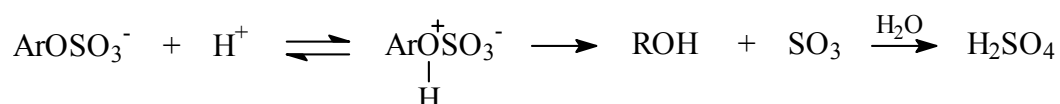
A acidez é fortemente influenciada na presença de solventes polares apróticos. A maioria das reações que ocorrem em solução são mais rápidas que em fase gasosa. Os fatores que determinam esta disparidade são conhecidos como solvatação. Solventes próticos facilitam a separação de carga e solvatam tanto a base como o ácido conjugado, deslocando o equilíbrio em favor de uma maior acidez. Solventes apróticos solvatam somente o produto catiônico e nos solventes mais polares, tal como DMSO, observa-se que a acidez é aumentada em relação a outros menos polares, como DMF. A polaridade não é o único fator, em um solvente prótico como metanol, a acidez é diminuída por um decréscimo na formação de ligações de hidrogênio. A comparação entre os solventes apróticos (DMF, DMSO e acetonitrila) revela que o mais básico dos solventes aumenta a acidez de um ácido HA, o que é determinado em parte, pela quebra da ligação de hidrogênio interna de HA (**Tabela 1**).¹⁰

Tabela 1. Efeito do solvente sobre a constante de dissociação do *p*-nitrofenol.

	pK_a				
	H ₂ O	MeOH	DMF	DMSO	MeCN
	7,15	11,2	10,9	9,9	7,0

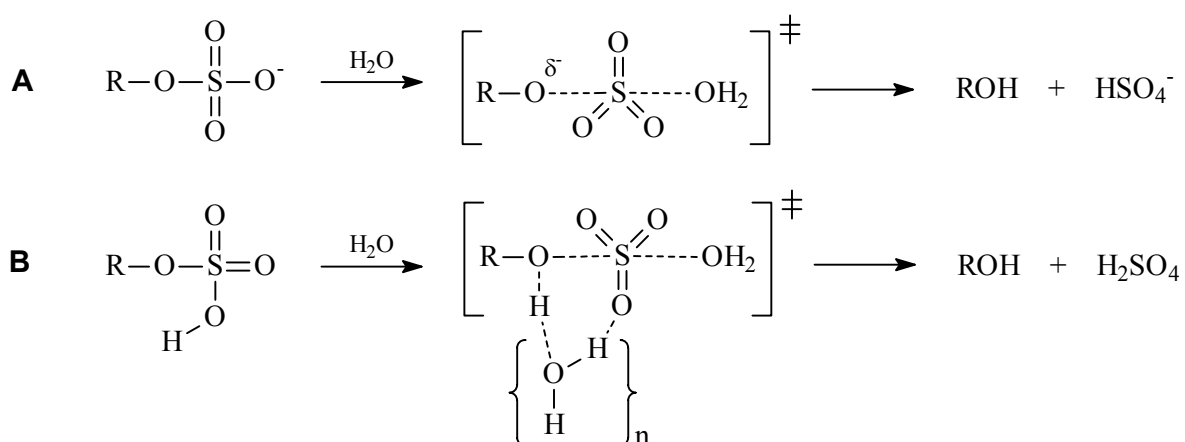
1.3.3. Reações de Transferência do Grupo Sulfurila:

A hidrólise de ésteres de sulfato é acelerada sob condições fortemente ácidas e básicas, com uma região que independe do pH entre 4 e 12 (hidrólise espontânea). Segundo Kice e Anderson,¹¹ em soluções aquosas os arilsulfatos de sódio sofrem hidrólise com catálise ácida levando a formação de um bissulfato de sódio e o fenol apropriado, seguindo a seguinte lei de velocidade, $v = k.[H^+].[ArOSO_3^-]$. O mecanismo inicialmente sugerido para a hidrólise ácido catalisada ocorre por um processo semelhante ao S_N2 , que pode ser expresso como segue (**Esquema 3**);



Esquema 3

Atualmente, dois mecanismos são propostos para a hidrólise espontânea e catalisada por ácido, estes dependem da participação da espécie aniônica ou da espécie neutra do éster de sulfato, respectivamente (**Esquema 4**). Há evidências que diferentes mecanismos são seguidos por estas espécies. Na hidrólise espontânea a espécie aniônica é a mais importante (**A**), enquanto que na hidrólise catalisada por ácido é a espécie neutra (**B**).¹²



Esquema 4

Em sistemas biológicos os ésteres do sulfato são formados por sulfotransferases, as quais transferem o grupo sulfurila de um anidrido sulfúrico, PAPS (3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato), para um grupo hidroxila do substrato. Este processo é contrabalanceado pela ação de sulfatases, que catalisam a hidrólise de ésteres de sulfato. Juntas, estas duas famílias de enzimas regulam o nível de sulfonação nos sistemas biológicos.²

Em um recente trabalho, o mecanismo de transferência do grupo sulfurila de PAPS para *p*-nitrofenol em um processo catalisado por β -arilsulfotransferase IV foi demonstrado após um estudo criterioso da reação direta e reversa, que a estrutura do estado de transição envolve uma histidina que recebe um próton do nucleófilo, enquanto o grupo de saída fosfato é formado (**Figura 2**).¹³

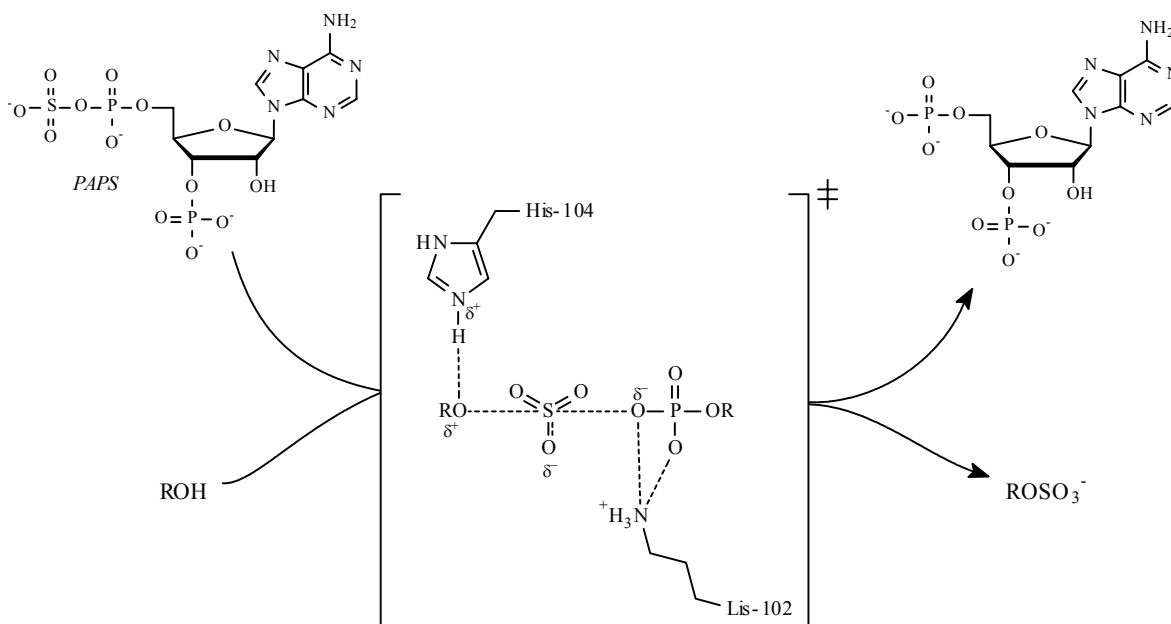


Figura 2. Mecanismo de formação de *p*-nitrofenilsulfato por β -arilsulfotransferase IV.

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

2.1. EQUIPAMENTOS:

A análise de difratometria de Raio-X foi realizada em um Difratômetro CAD-4 Enraf-nonius. Os espectros de UV/Vis e os dados cinéticos foram obtidos em um espectrofotômetro Varian modelo Cary 50, acoplado a um microcomputador, contendo um sistema de aquisição e tratamento de dados cinéticos Cary WinUV 3.00. Foram utilizadas cubetas de quartzo de 3 mL de capacidade e 1 cm de caminho ótico. O espectrofotômetro era acoplado a um banho termostático da Microquímica, modelo MQBTC99-20.

2.2. REAGENTES:

Os álcoois foram procedentes da Nuclear e Vetec, e o 1,4-dioxano da Merck, sendo destilados antes do uso em uma coluna capilar de fracionamento com 62 pratos teóricos e armazenados sob peneiras moleculares do tipo 4A.

2.3. SÍNTESE DO *p*-NITROFENILSULFATO DE PÓTASSIO (*p*NPS)

O *p*NPS foi sintetizado de acordo com o método de Ragan.¹⁴ Em um balão de fundo redondo contendo 5 mL de piridina seca, foi adicionado, lentamente e, com cautela 0,75 mL de ácido clorosulfônico. A mistura foi permitida reagir sob agitação à temperatura de -20 °C por alguns minutos, então se adicionou de uma só vez uma mistura que continha 3 mL de piridina seca e 1,39 g de *p*-nitrofenol previamente seco, a mistura resultante foi agitada por 20 horas a temperatura ambiente. Em seguida, a piridina foi retirada em um evaporador rotatório sob temperatura inferior a 35 °C. Adicionou-se água para 30 mL e o pH foi ajustado para próximo de 8 sob agitação, rotaevaporou-se a securo sob temperatura inferior a 40 °C. O resíduo sólido resultante foi dissolvido em etanol à quente, purificado com carvão ativo e filtrado a vácuo. A solução foi deixada em repouso por um dia, havendo a formação de cristais amarelos que foram filtrados sob vácuo. p.f. 246-249 °C, lit.¹⁵ 246-250 °C. Anal. Elementar para C₆H₄KNO₆S,

teórico: C, 28,0; H, 1,55; N, 5,44; S, 12,45. Experimental: C, 25,90; H, 2,04; N, 4,98; S, 7,89. UV/Vis: $\lambda_{\text{máx}}^{\text{Água}} = 280\text{nm}$. IV $\nu_{\text{máx}}$ (KBr): 1054 (C-O-S), 1248-1282 (S=O), 727 e 872 (sal éster de sulfato), 696 cm^{-1} (monosulfato). RMN ^1H 200 MHz (D_2O): δ 8,31 (d, 2H); 7,48 (d, 2H). Análise de difratometria de Raio-X de monocristais de *p*NPS resolveu a estrutura que apresentou interessantes características que serão apresentadas no capítulo de resultados e discussão.

2.4. ACIDIFICAÇÃO DOS SOLVENTES E PADRONIZAÇÃO:

Os solventes utilizados nos estudos cinéticos em meio ácido, metanol, etanol, propanol, propanol-2, butanol, butanol-2 e 1,4-dioxano foram acidificados com o borbulhamento de HCl gasoso. Em um funil de separação com HCl 37%, conectou-se um balão de duas bocas que continha H_2SO_4 concentrado, através do gotejamento da solução de HCl sobre o H_2SO_4 , obtinha-se a liberação de HCl gasoso que era conduzido e borbulhado dentro do solvente.

Os solventes acidificados foram padronizados por titulação com uma solução de KOH 0,0896 mol/L padronizada previamente com hidrogenoftalato de potássio. Estes foram diluídos para obter as concentrações apropriadas de ácido nas medidas cinéticas.

2.5. MEDIDAS CINÉTICAS:

As determinações cinéticas foram realizadas em solventes orgânicos neutros ou acidificados, onde a concentração de ácido variou de $5 \times 10^{-3}\text{M}$ a 0,25M. Para cada corrida cinética foi adicionado em uma cubeta, 3 mL do solvente que foi termostatizado a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. A reação foi iniciada pela adição de uma alíquota de 2 μL de uma solução estoque com $1,6 \times 10^{-3}\text{M}$ de *p*NPS em água (a concentração na cubeta foi igual a $1 \times 10^{-6}\text{M}$). A reação foi acompanhada pela formação do *p*-nitrofenol no comprimento de onda de 315 nm, no mínimo 90% da reação e em média 250 leituras de absorbância foram adquiridas. As constantes de primeira-ordem, k_{obs} , foram estimadas dos gráficos lineares de $\log(A_\infty - A_t)$ versus o tempo de reação por meio de um programa iterativo de mínimos

quadrados. As constantes de velocidade foram calculadas com erros inferiores a 1%, sendo o valor de k_{obs} em todos os experimentos uma média de três medidas (Figura 3).

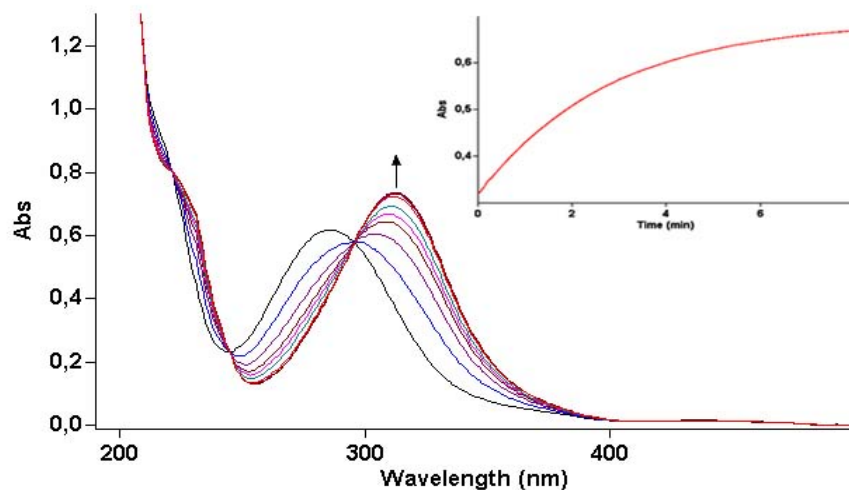


Figura 3. Espectros de UV-Vis em metanol da reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em 0,01 M de HCl a 25 °C. No detalhe, a cinética no comprimento de onda indicado pela seta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

A análise de difratometria de Raio-X dos monocristais obtidos da síntese do *p*NPS está representada **Figura 4**, é importante destacar que a resolução desta estrutura é ainda inédita na literatura.

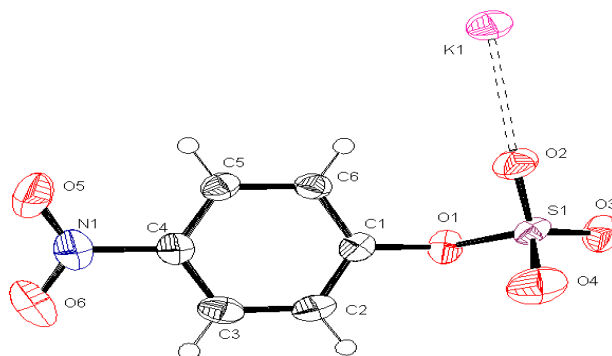


Figura 4. Estrutura do *p*NPS obtida da difratometria de Raio-X.

A análise de uma cela unitária do cristal demonstra uma coordenação interessante, tanto o oxigênio ligado a carbono do anel aromático de uma molécula como o grupo nitro de outra molécula de *p*NPS estão coordenados por um átomo de potássio (**Figura 5**).

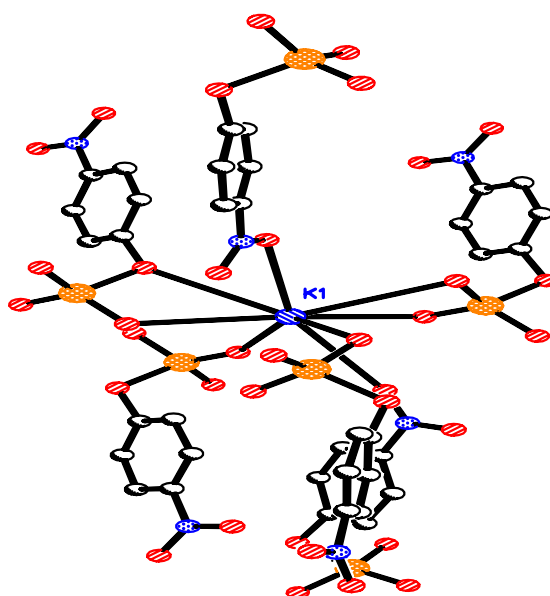


Figura 5. Ambiente de coordenação do átomo de potássio na estrutura cristalina do *p*NPS.

Na **Figura 6** está representado o efeito de álcoois primários e da acidez na reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS. Os resultados demonstram que o aumento da concentração de ácido nos álcoois leva a um aumento linear na velocidade de reação, que por sua vez, diminui com o aumento da cadeia alquílica dos álcoois. Na presença de álcoois secundários resultados similares foram obtidos e estão apresentados na **Figura 7**.

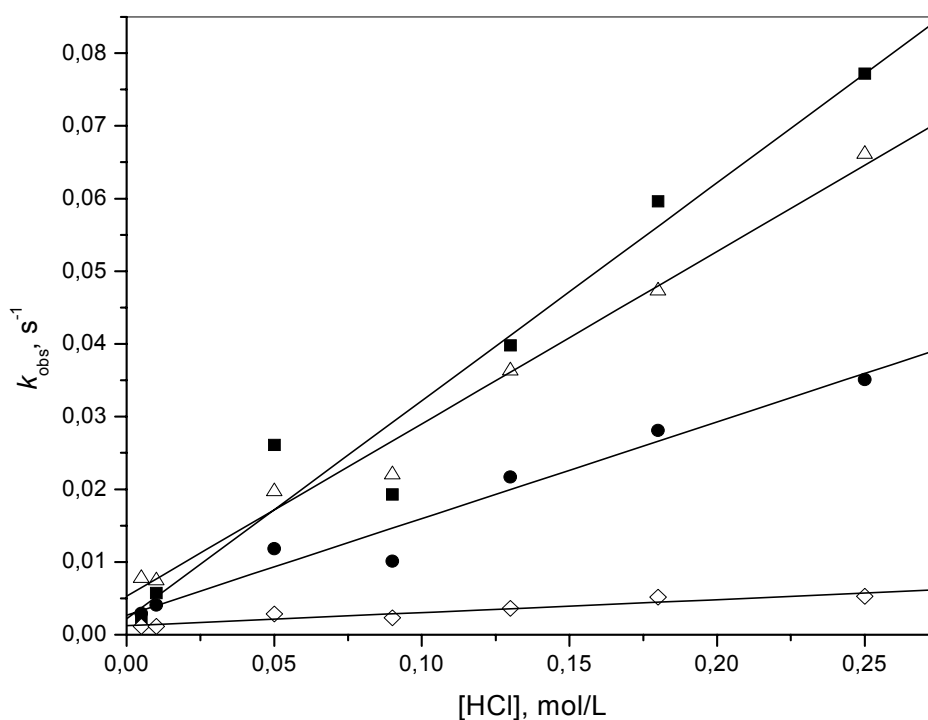


Figura 6. Variação da k_{obs} vs. a concentração molar de HCl para a reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em álcoois primários a 25 °C; (■) MeOH, (●) EtOH, (△) PrOH e (◇) BuOH.

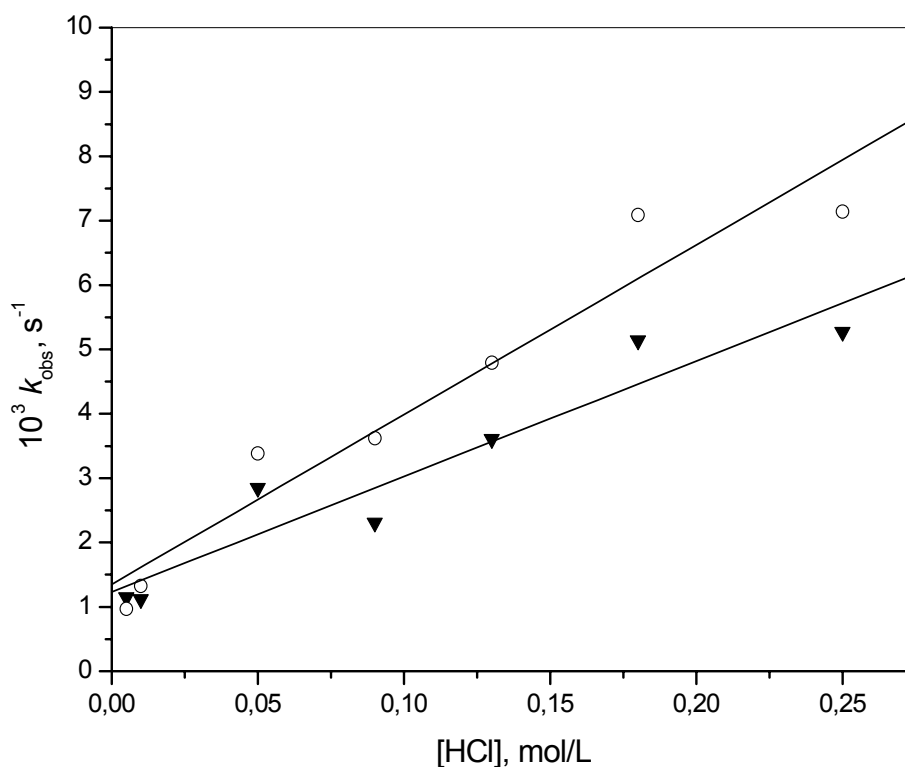


Figura 7. Variação da k_{obs} vs. a concentração molar de HCl para a reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em álcoois secundários a 25 °C; (○) PrOH-2, (▼) BuOH-2.

As reações de transferência do grupo sulfurila foram estudadas na presença de misturas de 1,4-dioxano/butanol-2 com 0,788 M de HCl. A reação na presença de 1,4-dioxano ocorre muito rapidamente e não podem ser acompanhadas nas condições deste trabalho. Assim, o uso de misturas de solvente constituiu um método adequado para o estudo do efeito do 1,4-dioxano (**Figura 8**).

A reação de transferência do grupo sulfurila também foi avaliada em misturas de metanol/etanol com 0,83 M de HCl, os resultados estão representados na **Figura 9**.

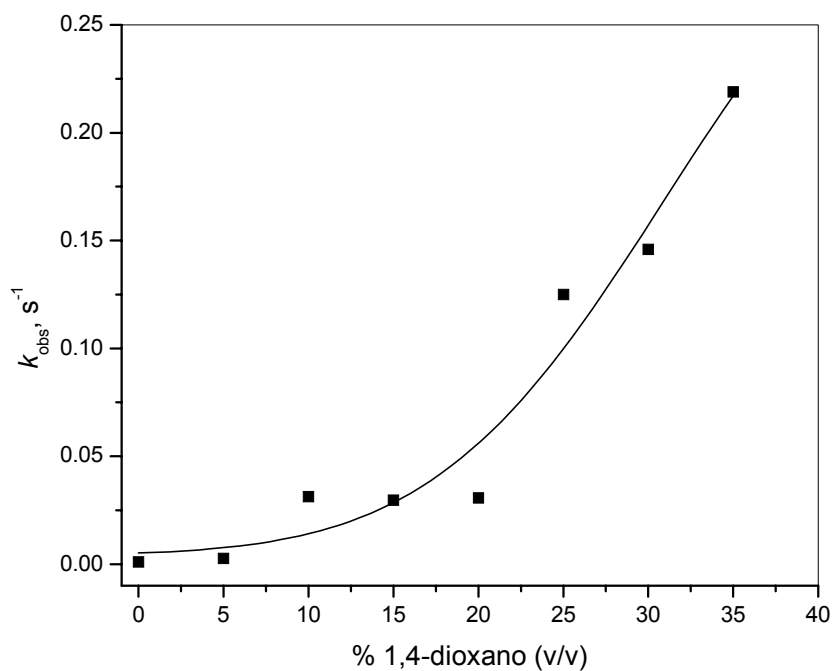


Figura 8. Variação da k_{obs} vs. a % de 1,4-dioxano para a reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em butanol-2 com 0,788 M de HCl a 25 °C.

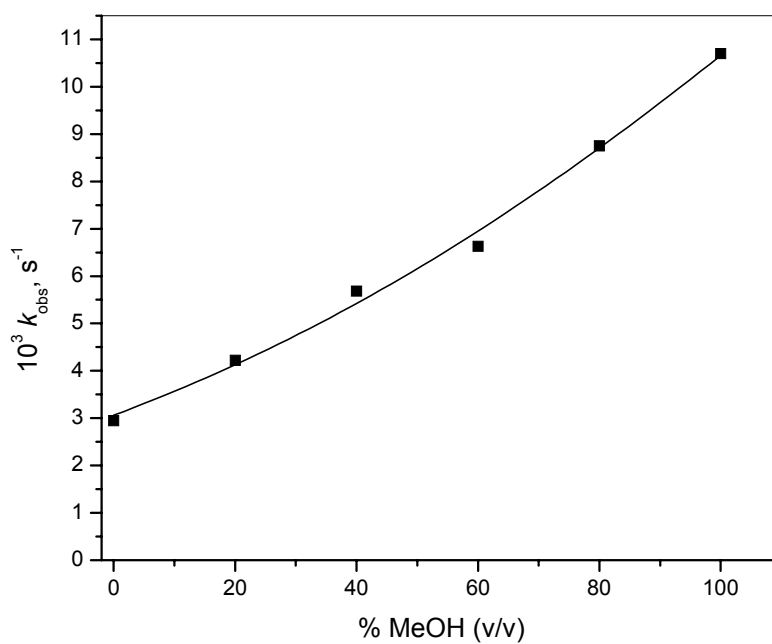
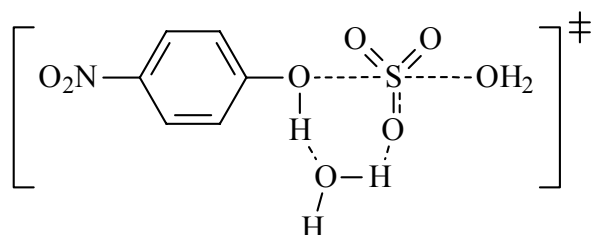


Figura 9. Variação da k_{obs} vs. a % de metanol para a reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em misturas metanol/etanol com 0,83 M de HCl a 25 °C.

Estudos anteriores da reação de hidrólise do *p*NPS foram realizados em água, a 40 °C e com 4,97 M de HCl, obteve-se uma k_{obs} igual a $9,1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$, é surpreendente que este valor seja igual quando a reação ocorre em uma mistura de 80-20% dioxano-água a 20 °C e na presença de apenas 0,50 M de HClO_4 .¹¹ Buncel e Chiaqui¹⁶ observaram que a 25 °C, a k_{H^+} em metanol foi igual a $1,855 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, se calcularmos de $k_{\text{obs}} = k_{\text{H}^+} \cdot [\text{H}^+]$ para 4,97 M de ácido, o valor da k_{obs} deve ser igual a $9,21 \text{ s}^{-1}$. Embora, a comparação entre a reação em água e em metanol não ser criteriosa, devido às diferenças de temperatura, pode-se esperar que em uma mesma temperatura a reação de hidrólise do *p*NPS é no mínimo 10^4 vezes mais rápida em metanol.

Segundo Alvan C. Hengge, *p*NPS na forma neutra sofre um mecanismo de transferência do grupo sulfurila semelhante ao observado para *p*-nitrofenilfosfato na forma de monoânion, com a transferência de um próton do grupo sulfurila para o grupo de saída simultaneamente com a clivagem da ligação S-O no estado de transição (**Esquema 5**).



Esquema 5

A **Tabela 2** mostra os valores de constantes de catálise ácida, k_{H^+} , obtidas do coeficiente angular dos gráficos das **Figuras 6 e 7**.

Tabela 2. Valores de constante de catálise ácida em diversos solventes para a reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS.

Solvente ^a	$10^3 k_{H^+}, M^{-1}.s^{-1}$
H ₂ O ^b	0,068
MeOH	299
EtOH	133
PrOH	237
BuOH-2	26
PrOH-2	18
BuOH	18

^a 25 °C neste trabalho; e ^b 40 °C.¹¹

É importante citar que os dados em etanol são mais válidos para uma mistura de 95/5% etanol/água do que etanol puro. Isto ocorre, visto que a obtenção de etanol puro por simples destilação fracionada não ser possível devido à formação de um azeótropo com a água. Este fato pode ser corroborado, desde que a baixa k_{H^+} para água faz com que uma pequena quantidade desta (tal como 5%) seja capaz de diminuir eficazmente o efeito do etanol.

As reações de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS podem depender de dois fatores; o primeiro mecanístico e o segundo devido a um efeito do solvente. O mecanismo de transferência em todos os casos deve ser semelhante, com exceção do nucleófilo, neste caso, pode ser estar tanto relacionada a nucleofilicidade como efeito estéreo.

A nucleofilicidade não é o fator mais importante neste caso, pois de outra forma não deveria se observar um efeito catalítico do ácido tão pequeno em água. Certamente, há uma participação do solvente no efeito catalítico do ácido. O fato do efeito catalítico aumentar da água para metanol, indica que a reação é favorecida em solventes próticos menos polares, onde a transferência do próton para o grupo de saída *p*-nitrofenol é favorecida. Este efeito também pode ser observado no forte efeito catalítico na presença de misturas de 1,4-dioxano/butanol-2.

Contudo, se observa que o efeito catalítico em álcoois de maior cadeia hidrocarbônica decresce, sugerindo que um segundo efeito do solvente deve estar acontecendo. Em parte, isto pode ser explicado pela diminuição na formação de ligações de hidrogênio, que favorecem a transferência do próton para o grupo de saída. Por outro lado, o ataque dos álcoois ao centro nucleofílico do *p*NPS indica que o efeito estérico pode também contribuir para a diminuição do efeito catalítico do ácido.

4. CONCLUSÃO:

No estudo do efeito do solvente sobre as reações de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS pode-se concluir que:

- i. A análise de difratometria de Raio-X do *p*NPS apresentou uma coordenação interessante, na qual, se observa que o potássio está parcialmente ligado ao átomo de oxigênio ligado ao anel aromático;
- ii. Com o aumento da concentração de ácido nos álcoois houve um aumento linear nas velocidades de reação, que foram de 265 a 4400 vezes maiores que em água. O aumento de velocidade em relação a água indicou que a reação é favorecida em solventes próticos menos polares, onde a formação do grupo de saída *p*-nitrofenol é favorecida. Este efeito demonstrou ser dependente das ligações de hidrogênio com o solvente, que diminui com o aumento da cadeia hidrocarbônica dos álcoois;
- iii. Na reação de transferência do grupo sulfurila do *p*NPS em meio ácido observou-se que a reação foi 230 vezes mais rápida em uma mistura 35/75% de 1,4-dioxano/butanol-2 que em butanol-2 puro. O aumento da proporção de 1,4-dioxano favorece a transferência do próton para o grupo de saída e conseqüentemente, promove a estabilização do estado de transição da reação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. ZHANG, Z.-Y. Chemical and Mechanistic Approaches to the Study of Protein Tyrosine Phosphatases. *Acc. Chem. Res.*, 36, 385-392, 2003.
2. HENGGE, A. Isotope Effects in the Study of Phosphoryl and Sulfuryl Transfer Reactions. *Acc. Chem. Res.*, 35, 105-112, 2002.
3. VERDUGO, A.; CANCELLA, M.T.; GE, X. *et al.* Discovery of Estrogen Sulfotransferase Inhibitors from a Purine Library Screen. *J. Med. Chem.*, 44, 2683-2686, 2001.
4. ATKINS, P.W. *Físico-química*. 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999.
5. MAHAN, B.M.; MYERS, R.J. *Química Um Curso Universitário*. 4ª ed. São Paulo: Edgard Blücher, 1995, pp. 233-265.
6. CASTELLAN, Gilbert William. *Físico-química*. V.2. Rio de Janeiro: LTC, 1972, pp. 69-73.
7. BENDER, M.L. *Mechanism of Homogeneous Catalysis from Protons to Proteins*. New York: Wiley, 1971.
8. ISAACS, N.S. *Physical Organic Chemistry*. New York: Longman, 1987, pp. 170-209 e 330-374.
9. CRAM, D.J.; RICKBORN, B., KINGBURY, C.A.; HABERFIELD, P. Electrophilic Substitution at Saturated Carbon. XIII. Solvent Control of Rate of Acid-Base Reactions that Involve the Carbon-Hydrogen Bond. *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 3678-3687, 1961.
10. SMITH, M.B. *Organic Synthesis*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 2002, p. 78.
11. KICE, J.L.; ANDERSON, J.M. The Mechanism of the Acid Hydrolysis of Sodium Aryl Sulfates. *J. Am. Chem. Soc.*, 88, 5242-5245, 1966.
12. HOFF, R.H.; LARSEN, P.; HENGGE, A.C. Isotope Effects and Medium Effects on Sulfuryl Transfer Reactions. *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 9338-9344, 2001.
13. CHAPMAN, E.; BRYAN, M.C.; WONG, C.H. Mechanistic Studies of β -Arylsulfotransferase IV. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100, 910-915, 2003.

14. RAGAN, M.A. Phenol Sulfate Esters: Ultraviolet, Infrared, ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Investigation. *Can. J. Chem.*, 56, 2681-2685, 1978.
15. ALDRICH CO. *Catalog Handbook of Fine Chemicals*. Milwaukee, USA: Aldrich, 1996.
16. BUNCEL, E.; CHUAQUI, C. The Acidolysis of *p*-Nitrophenyl Sulfate. A Kinetic Spectrophotometric Method for Evaluation of $\text{p}K_{\text{a}}$. *Can. J. Chem.*, 54, 673-677, 1976.